

Received: 2013.01.04
Accepted: 2013.05.24
Published: 2014.01.30

Tlenek węgla w fizjologii organizmu człowieka – rola w układzie pokarmowym

Carbon monoxide in human physiology – its role in the gastrointestinal tract

Katarzyna Jasnos, Marcin Magierowski, Sławomir Kwiecień, Tomasz Brzozowski

Katedra Fizjologii Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Kraków

Streszczenie

Tlenek węgla (CO) powstaje endogennie w organizmie jako produkt reakcji katalizowanej przez enzym oksygenazę hemową (HO). Z dwóch funkcjonalnych izoform HO-1 jest wysoce indukowalna i ulega ekspresji w wielu tkankach pod wpływem czynników, takich jak stres oksydacyjny, hipoksja, hem, endotoksyny bakteryjne, cytokiny prozapalne oraz metale ciężkie. HO-2 jest enzymem konstytucyjnym wykazującym ekspresję w wielu organach, zwłaszcza w mózgu i w gonadach. Badania przeprowadzone w ostatnich latach dowodzą, że CO to gazowy mediator o wielokierunkowej aktywności biologicznej. Gaz ten wykazuje właściwości podobne do innego, dobrze poznanego mediatora naczyniorozkurczowego – tlenku azotu (NO). Wymienionym wyżej związkom można przypisać udział w transmisji nerwowej, modulacji napięcia ścian naczyń krwionośnych oraz hamowaniu agregacji płytek krwi. Wiązanie się do ugrupowania hemowego cykazy guanylowej skutkujące aktywacją enzymu z jednoczesnym wzrostem wytwarzania cyklicznego GMP, modulacją Ca^{2+} -zależnych kanałów potasowych oraz stymulacją kinaz białkowych p38 MAP, to dotychczas poznane komórkowe mechanizmy działania CO. CO jest obecnie przedmiotem coraz większej liczby badań w różnych ośrodkach badawczych w kraju i zagranicą, dlatego celem pracy było przedstawienie istniejących współcześnie poglądów na temat roli CO w fizjologii organizmu człowieka ze szczególnym uwzględnieniem układu pokarmowego.

Słowa kluczowe:

tlenek węgla • oksygenaza hemowa • przewód pokarmowy • gazotransmitter

Summary

Carbon monoxide (CO) is produced endogenously in the body as a byproduct of heme degradation catalyzed by the action of heme oxygenase (HO) enzymes. An inducible form, HO-1, responds to many factors such as oxidative stress, hypoxia, heme, bacterial endotoxins, proinflammatory cytokines and heavy metals. HO-2 is constitutively expressed under basal conditions in most human tissues including brain and gonads. Recent data show that CO is a gaseous mediator with multidirectional biological activity. It is involved in maintaining cellular homeostasis and many physiological and pathophysiological processes. CO shares many properties with another established vasodilator and neurotransmitter – nitric oxide (NO). Both CO and NO are involved in neural transmission, modulation of blood vessel function and inhibition of platelet aggregation. The binding to guanylate cyclase, stimulation of the production of cGMP, activation of Ca^{2+} -dependent potassium channels and stimulation of mitogen-activated protein kinases are well known cellular targets of CO action. Since CO is nowadays a subject of extensive investigation in many centers worldwide, the aim of the present study was to present the role of CO in various aspects of human physiology with special focus on its activity in the gastrointestinal tract.

Key words:

carbon monoxide • heme oxygenase • gastrointestinal tract • gasotransmitter

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1087527>

Word count: 2232

Tables: –

Figures: 4

References: 53

Adres autorki: mgr Katarzyna Jasnos, Katedra Fizjologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum, 31- 531 Kraków, ul. Grzegórska 16, e-mail: katarzyna.jasnos@uj.edu.pl

Wykaz skrótów: **AMP** – adenozymonofosforan; **ATP** – adenozynotrifosforan; **BrdU** – bromodezoksurydyna; **cGMP** – cykliczny guanozyno-3',5'-monofosforan; **CO** – tlenek węgla; **CORM-2** – Carbon Monoxide Releasing Molecule-2; **GSH** – glutation zredukowany; **H₂S** – siarkowodor; **HO** – oksygenaza hemowa; **HSP32** – białko szoku cieplnego 32; **ICAM** – molekula adhezyjna śródbłonna; **ICC** – śródmiażdżowe komórki Cajala; **iNOS** – inhibitor syntazy tlenu azotu; **KCa** – wapniowozależne kanały potasowe; **L-NAME** – ester metylowy N(G)-nitro-L-argininy, nieselektywny inhibitor NOS; **LPS** – lipopolisacharyd; **MAPK** – kinaza białkowa aktywowana przez mitogeny; **MDA** – malonyldialdehyd; **MIP-1β** – makrofagowe białko zapalne 1β; **MPO** – mieloperoksydaza; **NF-κβ** – jądrowy czynnik transkrypcyjny κβ; **NO** – tlenek azotu; **NOS** – syntaza tlenu azotu; **ODQ** – inhibitor cykazy guanylowej; **O₂^{•-}** – anion nadadtlenkowy; **PDGF** – płytkopochodny czynnik wzrostu; **PPARγ** – receptor aktywowany przez proliferatory peroksydomów γ; **PPI** – nieorganiczny pirofosforan; **ROS** – reaktywne formy tlenu; **SnMP** – mezoportofiryna cynowa; **SUMO** – ubikwitynopodobne małe białko modyfikujące; **TNBS** – kwas 2,4,6-tribenzenosulfonowy; **TNF-α** – czynnik martwicy guza α; **ZnPP** – protoporfiryna cynkowa.

WSTĘP

Właściwości oraz szlaki metabolizmu CO

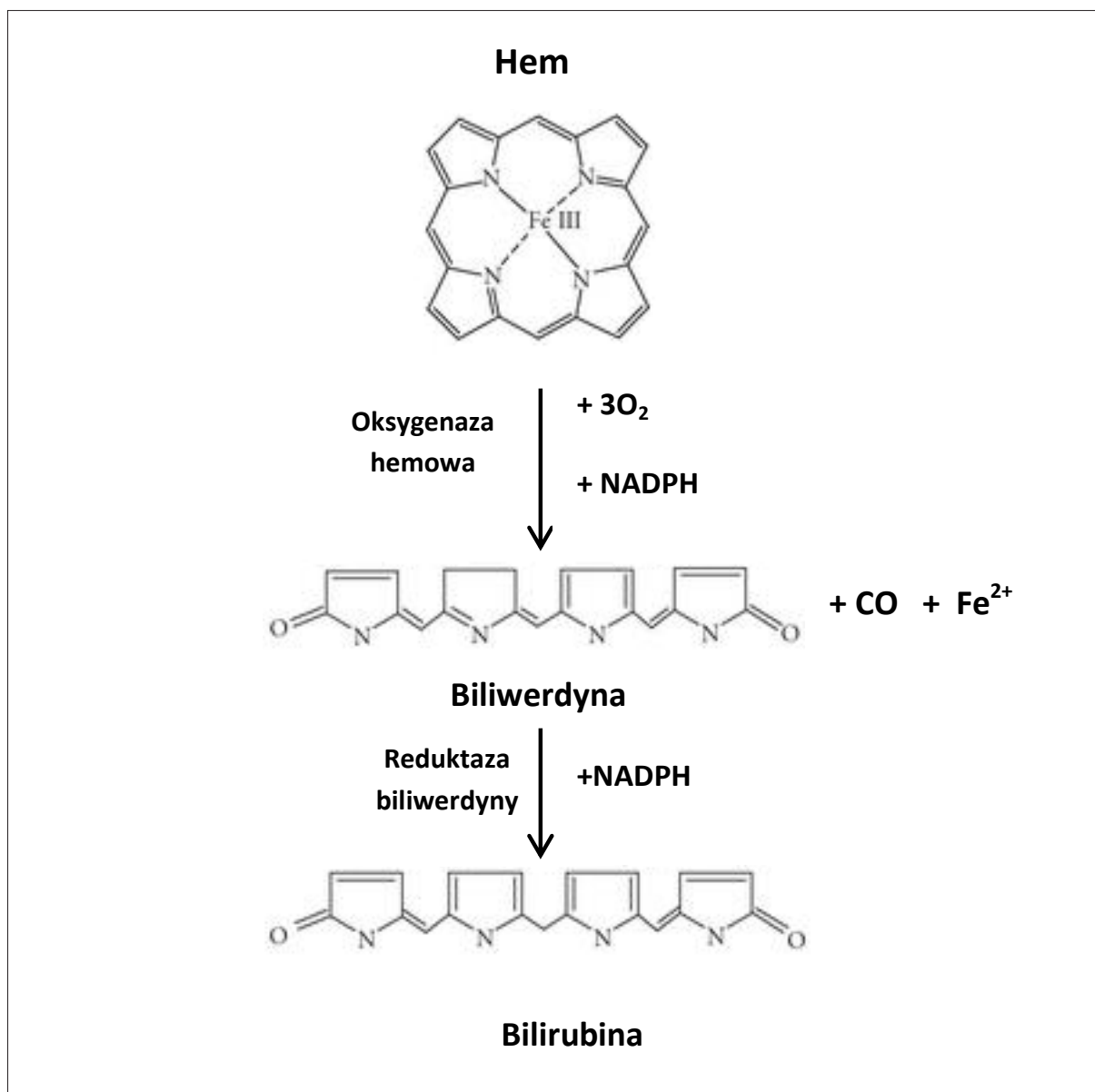
Tlenek węgla (CO) to gaz bez zapachu, smaku i koloru, zajmujący pod względem częstości zatruci trzecie miejsce tuż po zatruciach lekami i etanolem. Działanie toksyczne CO jest wynikiem bezpośredniego i nieodwracalnego łączenia się z hemoglobina (245-krotnie silniejszego niż łączenie tlenu z hemoglobina) z utworzeniem karboksyhemoglobiny (hemoglobiny tlenkowęgłowej) [37].

Hem jest protoporfiryną IX z umiejscowionym centralnie jonem Fe²⁺. Jon ten może tworzyć sześć wiązań koordynacyjnych: cztery z atomami azotu w płaszczyźnie pierścienia protoporfirynowego oraz dwa wiązania prostopadłe do płaszczyzny hemu (pod i nad płaszczyzną pierścienia), jedno wiążące O₂, drugie wiążące białko, a dokładniej pierścień imidazolowy histydyny F8, tzw. histydyny proksymalnej (ósma reszta aminokwasowa w helisie F białka). CO wypiera tlen z połączenia z hemoglobina, zajmując miejsce jego wiązania. Reakcja ta jest wprawdzie odwracalna, lecz zachodzi prawie 10 razy wolniej niż dysocjacja oksyhemoglobiny. Zaburzony transport tlenu z płuc do tkanek powoduje rozwój hipoksji. Dodatkowo CO, łącząc się z hemoglobina, zwiększa stabilność połączenia hemoglobiny z tlenem, przez co utrudnia oddawanie tlenu tkankom. Innym mechanizmem toksycznego działania CO jest łączenie się z oksydazą cytochromu c, w wyniku czego zakłóceniu ulega proces oddychania komórkowego [15,52].

W 1950 roku Sjöstrand udowodnił istnienie CO w organizmie. Fizjologiczne działanie tego związku zaczęto brać pod uwagę dopiero po poznaniu tlenu azotu (NO) w latach 80 XX wieku. Głównym źródłem endogennego CO w organizmie człowieka jest oksydacyjna degradacja hemu w reakcji katalizowanej przez enzym oksygenazę hemową (HO, EC 1.14.99.3) [43].

HO katalizuje przekształcenie cząsteczki hemu do równomolowych ilości biliwerdyny, tlenu węgla i kationu żelazawego (Fe²⁺) (ryc. 1). W reakcji wykorzystywane są trzy cząsteczki tlenu oraz elektrony dostarczane przez NADPH-zależną reduktazę cytochromu P450. Biliwerdyna szybko ulega konwersji do bilirubiny pod wpływem reduktazy biliwerdyny, która w wątrobie ulega koniugacji pod wpływem UDP-glukuronylotransferazy i zostaje wydalona do żółci. Żelazo jest wykorzystywane do syntezy innych hemoprotein lub jest magazynowane w połączeniu z ferrytyną. Chemiczne przekształcenie się hemu do bilirubiny można obserwować *in vivo* na przykładzie krwiaka, w którym purpurowa barwa hemu przechodzi stopniowo w żółte zabarwienie bilirubiny [2,38].

Reakcja katalizowana przez HO to główny mechanizm ochronny komórki ze względu na eliminację wolnego hemu, działającego prooksydacyjnie i cytotoksycznie, z jednoczesnym generowaniem barwników żółciowych - bilirubiny i biliwerdyny o silnym działaniu antyoksydacyjnym. Większość wolnego hemu pochodzi z roz-

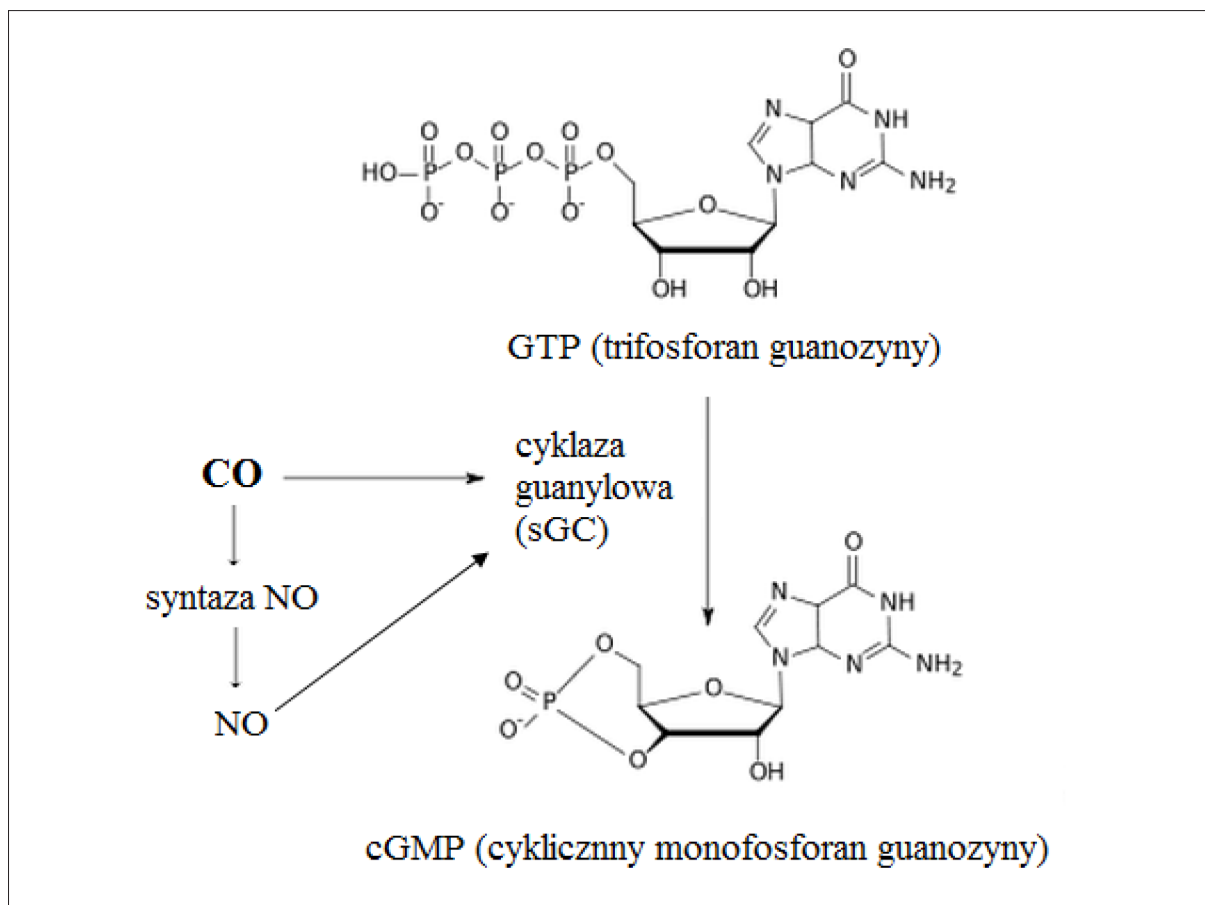


Ryc. 1. Reakcja rozkładu hemu katalizowana przez oksygenazę hemową z utworzeniem biliwerdyny, tlenku węgla oraz Fe II. Powstała biliwerdyna jest przekształcana do bilirubiny pod wpływem reduktazy biliwerdyny

padu hemoglobiny, niewielką frakcję stanowi hem pochodzący z innych hemoprotein: mioglobiny, katalazy, peroksydazy oraz cytochromów. W warunkach chorobowych dodatkowym źródłem CO staje się peroksydacja lipidów, fotooksydacja związków organicznych, a także aktywność bakterii jelitowych [1,2,32,52]. Dziennie jest wytwarzanych około 500 μmoli CO, co w przeliczeniu na objętość stanowi około 12 ml tego gazu [4].

Oksygenaza hemowa występuje w trzech izoformach: HO-1, HO-2, HO-3 kodowanych przez trzy różne geny. Izoforma HO-1 (m.c. 32 kDa), znana również jako białko szoku cieplnego 32 (HSP32), ma charakter indukowalny, co oznacza, że ekspresja genu HO-1 może zwiększać się pod wpływem wielu czynników. Czynniki te są

m.in.: duże stężenie hemu, ksenobiotyki, metaloporfiryny, promieniowanie UVA, LPS, stres oksydacyjny, hipoksja, płytkopochodny czynnik wzrostu (PDGF), NO i jego donory oraz niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ). W warunkach prawidłowych HO-1 występuje w dużych ilościach w wątrobie i śledzionie, gdzie bierze udział w katabolizmie hemoglobiny uwolnionej z rozpadających się erytrocytów. Izoforma HO-2 (m.c. 36 kDa) jest enzymem konstytutywnym, a największe jej ilości stwierdza się w neuronach i komórkach śródbłonna, a w mniejszych ilościach w większości innych tkanek [6,33,35,45]. Obecność izoformy HO-3 wykazano w mózgu szczurów, jednak jej znaczenie fizjologiczne jest mniej poznane, a ponadto do tej pory nie wykazano jej aktywności u ludzi [5].



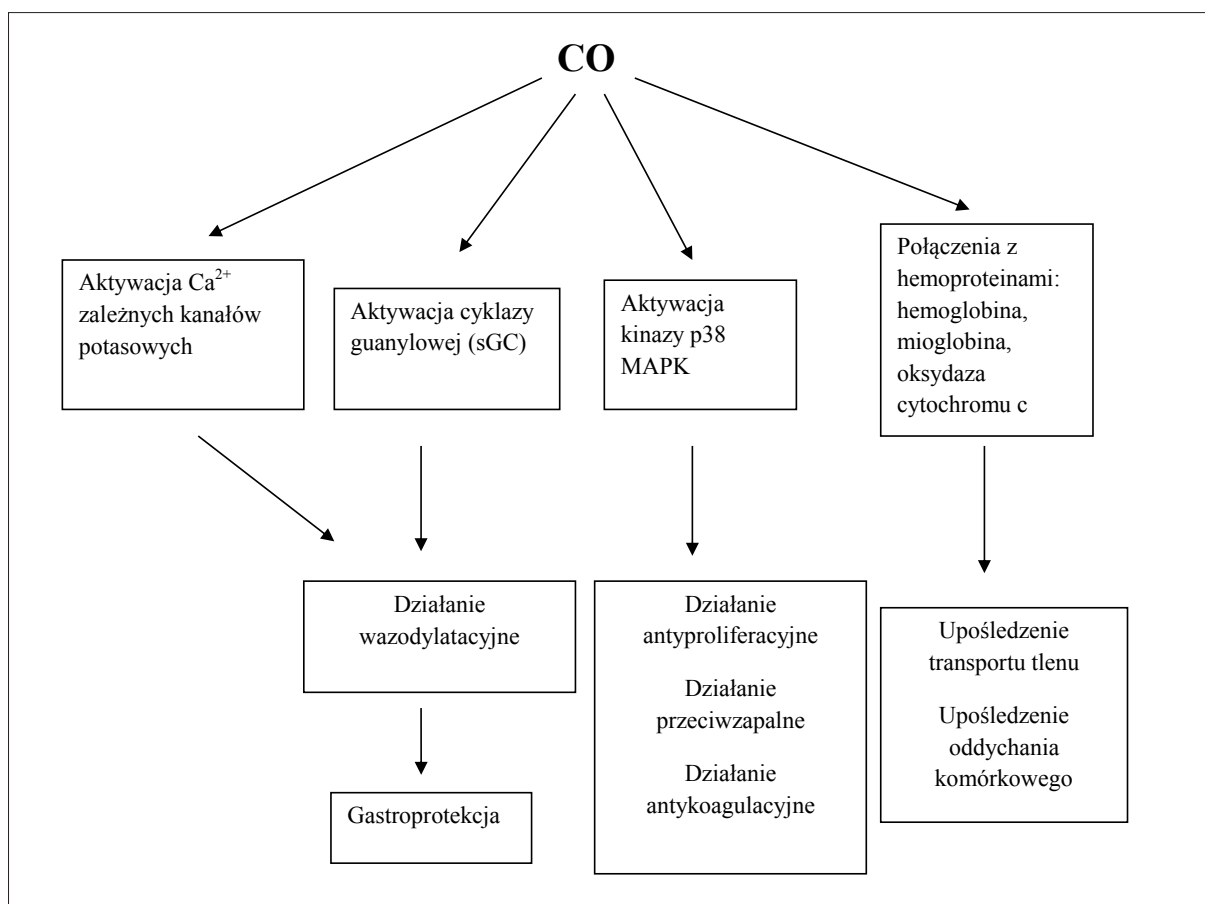
Ryc. 2. Bezpośredni i przypuszczalnie pośredni - poprzez NO - pobudzający wpływ CO na aktywność enzymu sGC oraz wzrost wytwarzania cGMP

Komórkowe mechanizmy działania CO

Tlenek węgla łącząc się z hemoproteinami, takimi jak hemoglobina, mioglobina, katalaza, peroksydaza, NOS, oksydaza cytochromu c i innymi, hamuje ich funkcje, natomiast łącząc się z ugrupowaniem hemowym rozpuszczalnej cyklazy guanylowej (sGC) zwiększa 4-krotnie jej aktywność [17]. Aktywacja sGC powoduje wzrost śródkomórkowego stężenia cGMP, co aktywuje zależną od cGMP kinazę białkową. Dochodzi do zmniejszenia wewnątrzkomórkowego stężenia wapnia i rozkurczu mięśnia gładkiego. Pośrednią drogą aktywacji sGC jest wpływ CO na aktywność NOS, z następującą syntezą NO, który również stymuluje sGC (ryc. 2) [5]. Procesami zależnymi od cGMP, w których bierze udział CO, są: rozszerzanie naczyń krwionośnych, hamowanie agregacji płytek oraz neurotransmisja (ryc. 3) [3,35,46,53].

Tlenek węgla moduluje aktywność Ca^{2+} -zależnych kanałów potasowych (KCa), działając na podjednostkę α powoduje otwarcie kanałów potasowych umożliwiając wpływ potasu jednocześnie hamując napływ wapnia, co w rezultacie prowadzi do hiperpolaryzacji i rozkurczu miocytów gładkich. Co ważniejsze, interakcja CO z resztą histydyny w podjednostce α KCa nie wpływa na łączenie się NO z grupami $-\text{SH}$ reszt cysteiny w podjednostce β KCa [6,12,48,51].

Naukowcy badając populację makrofagów wykazali, że przeciwwzapalne działanie CO może zachodzić w wyniku stymulacji jednego z białek rozpręgających łańcuch oddechowy w mitochondriach - UCP2. UCP ma zwiększać przeciek reaktywnych form tlenu (ROS) z kompleksu I i III, a uwolnione ROS stymulować proces SUMO-ylacji (small ubiquitin-related modifier - SUMO) receptora jądrowego PPAR γ oraz fosforylacji kinazy białkowej aktywowanej mitogenem p38 (p38 mitogen activated protein kinase, p38 MAPK) (ryc. 4). Rodzina peptydów SUMO, do której obecnie zaliczamy cztery homologi (SUMO 1-4), należy do serii małych ubikwitynopodobnych białek modyfikujących (small ubiquitin-like modifier, UBLs). Proces SUMO-ylacji to modyfikacja potranslacyjna polegająca na kowalentnym przyłączeniu C-końcowej reszty glicyny polipeptydu SUMO do reszty lizynowej białka ulegającego modyfikacji. Następnym etapem omawianego procesu jest regulacja procesów komórkowych, takich jak: transport jądrowy, cykl komórkowy, transdukcja sygnału oraz odpowiedź zapalna. W przeciwieństwie do ubikwitylizacji samo przyłączenie SUMO nie kieruje białek na drogę proteolizy i nie powoduje wzrostu ich degradacji. Co więcej wpływ ubikwityny na czynniki transkrypcyjne jest skorelowany ze zwiększeniem ekspresji odpowiednich genów, natomiast wpływ peptydu SUMO jest odwrotny i polega na hamowaniu ekspresji genów. Oba procesy są jednak odwracalne, mają na celu



Ryc. 3. Wielokierunkowe (plejotropowe) działanie CO w organizmie

wpływ na rozmieszczenie białek w komórce oraz regulację ich aktywności. Najnowsze badania molekularne oraz biochemiczne wykazały, że potranslacyjna SUMO-ylacja receptora PPAR γ hamuje ekspresję genów zaangażowanych w rozwój procesu zapalnego [7,10,29,34,39].

Według badań ostatnich lat działanie przeciwzapalne CO jest wynikiem działania poprzez kinazy MAP, czyli klasę kinaz serynowo-treoninowych aktywowanych w odpowiedzi na różne czynniki stymulujące i stanowiącą wewnątrzkomórkową ścieżkę sygnalizacyjną [23,32]. Otterbein i wsp. dowiedli, iż niskie stężenia CO hamują ekspresję prozapalnych cytokin TNF- α , IL- β oraz MIP-1 β , natomiast stymulują ekspresję cytokin przeciwzapalnych IL-10 w modelu zapalenia wywołanego LPS zarówno *in vivo* jak i *in vitro* [32]. Białkiem odpowiedzialnym za działanie przeciwzapalne CO jest kinaza p38 MAP, która w bliżej nieznanym mechanizmie zwiększa ekspresję genu HO-1 w odpowiedzi na stres oksydacyjny. Dowiedziono, iż w omawianym modelu działanie przeciwzapalne jest niezależne od cGMP i NO.

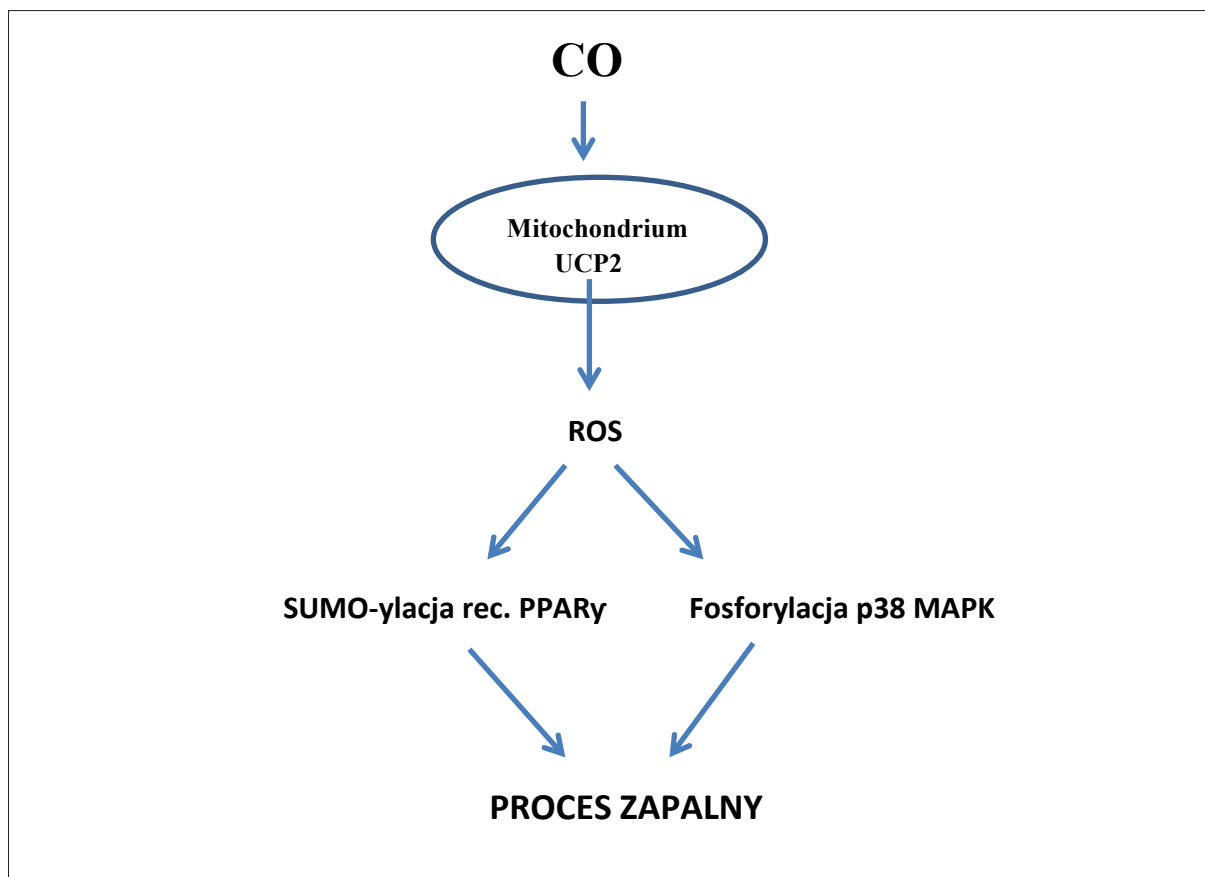
Znaczenie CO w fizjologii układu pokarmowego

Unikalną właściwością błony śluzowej żołądka jest utrzymanie równowagi między czynnikami ochronnymi, a

czynnikami uszkadzającymi jej ciągłość, tj. jonami H⁺, pepsyną oraz uważanym obecnie za jeden z głównych czynników patogennych, bakterią *Helicobacter pylori*. Mechanizmy obronne błony śluzowej żołądka obejmują: komórki nabłonka wraz ze ścisłymi złączami międzykomórkowymi, warstwę alkalicznego śluzu, mikrokrążenie, niezaburzoną aktywność czuciowych włókien aferentnych uwalniających neuropeptydy naczyniorozszerzające oraz prostaglandyny [21,24]. W ostatnich latach dużą uwagę poświęca się gastroprotektynemu działaniu hormonów głodu i sytości, gastryny oraz innemu gazowemu neuroprzekaznikowi, siarkowodorowi (H₂S) [15,19,21,27,41]. Niewiele jest natomiast informacji na temat ochronnego działania CO.

Pouokam i wsp. opisali regulacyjny wpływ donora CO na transport jonów w jelicie grubym [33]. Gazoprzekaznik w wyniku aktywacji kanałów anionowych i zależnych od Ca²⁺ kanałów potasowych jest odpowiedzialny za transsepitelialny transport jonów HCO₃⁻ i Cl⁻.

Takasuka i wsp. wykazali zależny od dawki wpływ donorów CO na sekrecję HCO₃⁻ przez komórki nabłonka dwunastnicy szczurów [45]. Mechanizmem leżącym u podstaw tego procesu jest zaobserwowany jednocześnie wzrost stężenia endogennych prostaglandyn PGE₂



Ryc. 4. Modulujący wpływ CO na proces zapalny. CO przez stymulację białka rozpręgającego mitochondrialny łańcuch oddechowy zwiększa generację reaktywnych form tlenu (ROS). Uwolnione ROS stymulują proces SUMO-ylacja receptora jądrowego PPAR γ hamując tym samym ekspresję genów zaangażowanych w rozwój procesu zapalnego

w błonie śluzowej dwunastnicy. Potwierdza to, że jednoczesne podanie donora CO oraz indometacyny znosi sekrecję HCO_3^- . Ponadto CO reguluje także aktywność syntazy tlenu azotu (NOS) stymulując wytwarzanie NO przy niskich stężeniach, natomiast hamując jego wytwarzanie przy wysokich stężeniach. Podając L-NAME, nieselektywny inhibitor NOS, wykazano, że wpływ CO na wydzielanie HCO_3^- jest niezależny od endogenne wytwarzanego NO, którego działanie stymulujące sekrecję HCO_3^- zachodzi także poprzez wzrost stężenia endogennych prostaglandyn.

Gomes i wsp. wykazali gastroprotektoryjne działanie donoru CO, heminy (induktora HO-1) oraz biliwerdyny w modelu etanolowego uszkodzenia błony śluzowej żołądka u myszy. Jednocześnie z działaniem ochronnym tych związków wzrasta ekspresja HO-1, a efekt ten zostaje zniesiony po podaniu ZnPP – inhibitora HO-1. W mechanizmie działania CO bierze udział aktywacja rozpuszczalnej cykazy guanylowej. Hamowanie tego enzymu przez ODQ odwraca protektoryjne działania CO [8]. Całkiem odmienne rezultaty uzyskali Ibrahim i wsp., którzy udowodnili, że ZnPP redukuje owrzodzenia błony śluzowej żołądka w modelu uszkodzenia indukowanego stresem wodnym z unieruchomienia i oziębienia [11].

Uzyskany rezultat jest wynikiem zmniejszenia nasilenia procesu peroksydacji lipidów błonowych.

Wpływ inhalacji CO na gastroparezę u myszy z cukrzycą typu 1 polega na opóźnionym opróżnianiu żołądkowym przez upośledzenie neuronalnej NOS oraz śródmiąższowych komórek Cajala (ICC). Inhalacje niskich dawek CO (100 ppm) normalizują proces gastroparezy w powiązaniu ze zwiększeniem liczby komórek Cajala w żołądku, co potwierdzono wzrostem ekspresji białka Kit występującego w tych komórkach. Normalizacja opróżniania żołądkowego i wzrost ekspresji białka Kit, to wynik zmniejszenia stresu oksydacyjnego przez CO, czego wskaźnikiem jest spadek stężenia jednego z produktów peroksydacji lipidów, malonyldialdehydu (MDA) [16].

Udowodniono protektoryjny wpływ donorów CO na zmiany w jelicie cienkim wywołane termicznym uszkodzeniem ciała myszy. Egzogenne CO hamuje proces peroksydacji lipidów, czego wynikiem jest spadek poziomu MDA. Jednocześnie CO zapobiega obniżeniu stężenia glutationu zredukowanego (GSH). Gaz ten działa także przeciwzapalnie obniżając stężenia prozapalnych cytokin IL-1- β , IL-8 oraz TNF- α w śluzówce jelita czczego i krętego. Nadtlenoazotyny (ONOO^-), powstające z

dużych ilości generowanego NO, nasilają uszkodzenia oksydacyjne komórki, stąd też kolejnym mechanizmem protekcyjnego działania CO na komórki jelita cienkiego u zwierząt poddanych omawianym uszkodzeniom, jest zahamowanie wytwarzania NO oraz ekspresji indukowalnej syntazy tlenku azotu (iNOS) w homogenatach tkankowych, które mogą być źródłem ONOO⁻ [25]. Gram-dodatnia bakteria *Clostridium difficile* jest główną przyczyną zapalenia jelit spowodowanego antybiotykoterapią. W modelu zapalenia jelita, wywołanego toksyną A tej bakterii, podanie donora CO skutkowało hamowaniem procesu zapalnego i zmniejszeniem nacieku neutrofilów, czego przejawem było zmniejszenie aktywności mieloperoksydazy (MPO) i stężenia cytokin prozapalnych TNF- α i IL-1 β [26].

Reaktywne formy tlenu, takie jak anion ponadtlenkowy i nadtlenek wodoru oraz generowane duże ilości NO przez iNOS biorą udział w patogenezie zapalenia jelita grubego (inflammatory bowel disease - IBD) u ludzi. Wang i wsp. wykorzystując eksperymentalny model uszkodzenia jelita grubego za pomocą kwasu 2,4,6-trinitrobenzenosulfonowego (TNBS) określili rolę HO-1 w doświadczalnym modelu wrzodziejącego zapalenia jelit [49]. Wykazany wzrost ekspresji genu dla HO-1 stanowi obronę przeciw wolnorodnikowemu uszkodzeniu indukowanemu przez TNBS. Zjawisko to potwierdza wzrost aktywności mieloperoksydazy (MPO), powszechnie stosowanego wskaźnika infiltracji neutrofilowej tkanek w grupie zwierząt, którym podano inhibitor HO-1 - me-zoporfirynę cynową (SnMP) 3 h przed i 21 h po wywołaniu IBD w porównaniu do grupy zwierząt, której nie podano inhibitora HO-1. Dodatkowo wykazano wzrost aktywności HO-1 pod wpływem stymulatora HO - heminy i zmniejszenie ekspresji mRNA dla iNOS, z jednoczesnym generowaniem nadmiaru NO, który reagując z anionorodnikiem ponadtlenkowym (O₂^{•-}) tworzy wspomniane wcześniej silnie cytotoksyczne nadtlenoazoty [9,42,49].

Proliferacja komórek gwiaździstych trzustki odgrywa główną rolę w procesie włóknienia tego narządu. Aktywność mitotyczna komórek, badana poprzez ocenę wbudowywania bromodezoksyurydyny (BrdU) do nowo syntezowanego DNA, ulega zahamowaniu pod wpływem donorów CO. Działanie antyproliferacyjne CO zachodzi w wyniku aktywacji kinazy MAP p38 [40].

Nakao i wsp. wykazali immunomodulacyjny wpływ inhalacji CO na zmniejszenie ischemicznych uszkodzeń jelita cienkiego u szczurów [31]. Powstająca w okresie ischemii oksydaza ksantynowa wykorzystuje tlen dostarczany w czasie reperfuzji do utleniania hipoksantyny z wytworzeniem cytotoksycznego O₂^{•-}. Inhalacja CO, w stężeniu 225 ppm na godzinę przed reperfuzją i 24 h po, zmniejsza uszkodzenia błony śluzowej jelita w wyniku zwiększenia mikrokrażenia tkankowego w sposób mediowany przez cyklazę guanylową i cGMP, hamowania tworzenia się prozapalnych cytokin (TNF- α , IL-1 β) oraz ograniczania apoptozy komórek śródbłón-

ka naczyń i komórek nabłonkowych jelita cienkiego w wyniku zwiększenia liczby receptorów anty-apoptotycznej molekuly Bcl-2 (tzw. regulacja w górę, up-regulation) oraz zmniejszenia liczby receptorów proapoptotycznego białka Bax (tzw. regulacja w dół, down-regulation). Dodatkowo zaobserwowano zahamowanie ekspresji iNOS przy zwiększonej ekspresji HO-1, co oprócz korzystnych następstw w jelicie może sugerować zbieżność w mechanizmie działania między CO i NO oraz syntetyzującymi je enzymami [22,30].

Do podobnych wniosków doszli Wei i wsp., którzy stwierdzili, że donor CO skutecznie zapobiega uszkodzeniom wątroby spowodowanym ischemią z następującą reperfuzją (I/R) u szczurów [50]. Uszkodzenie ischemiczne wątroby jest skutkiem generowania wolnych rodników tlenowych w chwili przywrócenia wątrobowego przepływu krwi, co prowadzi do oksydacyjnych modyfikacji białek i lipidów, indukcji apoptozy hepatocytów oraz wzrostu uwalniania prozapalnych cytokin. Autorzy udowodnili, że potencjalne działanie hepatoprotekcyjne wynika z hamowania aktywacji czynnika transkrypcyjnego NF- κ B, którego zahamowanie pod wpływem CO obniża tworzenie prozapalnych cytokin (TNF- α) oraz molekuł adhezyjnych śródbłónka (ICAM-1), co w rezultacie hamuje migrację i adhezję neutrofilów. Podawanie donorów CO wiąże się z minimalnym wzrostem tworzenia karboksyhemoglobiny, które uważa się za bezpieczniejsze w stosunku do inhalacji CO [17,28].

Badania ostatnich lat, prowadzone w celu wyjaśnienia mechanizmów odpowiedzialnych za utrzymanie integralności błony śluzowej żołądka, skupiają się na działaniu gastroprotekcyjnym czynników regulujących apetyt, takich jak grelina, leptyna, gastryna, ale również gazów NO oraz H₂S. W poszukiwaniu fizjologicznej roli CO w organizmie coraz częściej podkreśla się zdolność tego gazu do gastroprotekcji. Intensywne badania prowadzone w ostatnim czasie w Katedrze Fizjologii CM UJ pozwoliły wykazać ochronne działanie donoru CO (Carbon Monoxide Releasing Molecule-2 - CORM-2) w modelu etanolowym uszkodzenia błony śluzowej żołądka. Uzyskany korzystny wynik redukcji tych uszkodzeń był hamowany przez podanie inhibitora oksygenazy hemowej 1- ZnPP wraz z CORM-2. Korzystne działanie CO, które przejawiało się zmniejszeniem liczby i powierzchni uszkodzeń korelowało dodatnio z żądkowym przepływem krwi (wyniki własne niepublikowane). Badania nad reaktywnymi formami tlenu pozwalają przypuszczać, że donory CO będą zmniejszać ostre uszkodzenia błony śluzowej żołądka w wyniku hamowania procesu peroksydacji lipidów z jednoczesnym nasileniem mechanizmów antyoksydacyjnych [13,14]. Dalsze badania będą miały na celu zweryfikowanie tej hipotezy oraz dodatkowo określenie roli endogennych prostaglandyn, aferentnych włókien czuciowych typu C oraz supresji stanu zapalnego w mechanizmie ochronnym obserwowanym pod wpływem CO uwalnianego z donorów tej molekuly.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Baranano D.E., Rao M., Ferris C.D., Snyder S.H.: Biliverdin reductase: a major physiological cytoprotectant. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002; 99: 16093-16098
- [2] Bełtowski J., Jamroz A., Borkowska E.: Oksygenaza hemowa i tlenek węgla w fizjologii i patologii układu krążenia. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2004; 58: 83-99
- [3] Chłopicki S., Olszanecki R., Marcinkiewicz E., Lomnicka M., Motterlini R.: Carbon monoxide released by CORM-3 inhibits human platelets by a mechanism independent of soluble guanylate cyclase. *Cardiovasc. Res.*, 2006; 71: 393-401
- [4] Coburn R.F., Williams W.I., Kahn S.B.: Endogenous carbon monoxide production in patients with hemolytic anemia. *J. Clin. Invest.*, 1966; 45: 460-468
- [5] Dulak J., Józkowicz A.: Carbon monoxide – a “new” gaseous modulator of gene expression. *Acta Biochim. Pol.*, 2003; 50: 31-47
- [6] Gibbons S.J., Farrugia G.: The role of carbon monoxide in the gastrointestinal tract. *J. Physiol.*, 2004; 556: 325-336
- [7] Gill G.: SUMO and ubiquitin in the nucleus: different functions, similar mechanisms? *Genes Dev.*, 2004; 18: 2046-2059
- [8] Gomes A.S., Gadelha G.G., Lima S.J., Garcia J.A., Medeiros J.V., Havt A., Lima A.A., Ribeiro R.A., Brito G.A., Cunha F.Q., Souza M.H.: Gastroprotective effect of heme-oxygenase 1/biliverdin/CO pathway in ethanol-induced gastric damage in mice. *Eur. J. Pharmacol.*, 2010; 642: 140-145
- [9] Grisham M.B.: Oxidants and free radicals in inflammatory bowel disease. *Lancet*, 1994; 344: 859-861
- [10] Haschemi A., Chin B.Y., Jeitler M., Esterbauer H., Wagner O., Bilban M., Otterbein L.E.: Carbon monoxide induced PPAR γ SUMOylation and UCP2 block inflammatory gene expression in macrophages. *PLoS One*, 2011; 6: e26376
- [11] Ibrahim I., El-Sayed S., Abdel-Hakim S., Hassan M., Aziz N.: Inhibition of endogenous CO by ZnPP protects against stress-induced gastric lesion in adult male albino rats. *J. Physiol. Biochem.*, 2012; 68: 319-328
- [12] Jaggar J.H., Li A., Parfenova H., Liu J., Umstot E.S., Dopico A.M., Leffler C.W.: Heme is a carbon monoxide receptor for large-conductance Ca²⁺-activated K⁺ channels. *Circ. Res.*, 2005; 97: 805-812
- [13] Jasnos K., Kwiecień S., Magierowski M., Brzozowski B., Śliwowski Z., Mitis-Musiół M., Nawrot E., Pawlik M.W., Konturek S., Brzozowski T.: Importance of reactive oxygen species in experimental models of gastric mucosa damage. 21th International Symposium: Molecular and Physiological Aspects of Regulatory Processes of the Organism, Kraków, 14-15.06.2012
- [14] Jasnos K., Magierowski M., Kwiecień S., Brzozowski T., Konturek S.: Reaktywne formy tlenu – znaczenie w patomechanizmie eksperymentalnych uszkodzeń błony śluzowej żołądka. Kongres Polskiego Towarzystwa Gastroenterologicznego, Kraków, 4-6.10.2012
- [15] Kajimura M., Fukuda R., Bateman R.M., Yamamoto T., Suematsu M.: Interactions of multiple gas-transducing systems: hallmarks and uncertainties of CO, NO, and H₂S gas biology. *Antioxid. Redox Signal.*, 2010; 13: 157-192
- [16] Kashyap P.C., Choi K.M., Dutta N., Linden D.R., Szurszewski J.H., Gibbons S.J., Farrugia G.: Carbon monoxide reverses diabetic gastroparesis in NOD mice. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 2010; 298: G1013-G1019
- [17] Katada K., Bihari A., Mizuguchi S., Yoshida N., Yoshikawa T., Fraser D.D., Potter R.F., Cepinskas G.: Carbon monoxide liberated from CO-releasing molecule (CORM-2) attenuates ischemia/reperfusion (I/R)-induced inflammation in the small intestine. *Inflammation*, 2010; 33: 92-100
- [18] Kharitonov V.G., Sharma V.S., Pilz R.B., Magde D., Koesling D.: Basis of guanylate cyclase activation by carbon monoxide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1995; 92: 2568-2571
- [19] Konturek P.C., Brzozowski T., Walter B., Burnat G., Hess T., Hahn E.G., Konturek S.J.: Ghrelin-induced gastroprotection against ischemia-reperfusion injury involves an activation of sensory afferent nerves and hyperemia mediated by nitric oxide. *Eur. J. Pharmacol.*, 2006; 536: 171-181
- [20] Konturek S.J.: Choroba wrzodowa – patofizjologia i leczenie. *Przew. Lek.*, 2001; 4: 98-107
- [21] Konturek S.J., Brzozowski T., Bielanski W., Schally A.V.: Role of endogenous gastrin in gastroprotection. *Eur. J. Pharmacol.*, 1995; 278: 203-212
- [22] Konturek S.J., Pawlik W.W., Brzozowski T., Pawlik M.W., Kwiecień S.: Przemiany reaktywnych form tlenu w doświadczalnym, stresowym modelu uszkodzeń błony śluzowej żołądka. *Gastroenterol. Pol.*, 2010; 17: 234-243
- [23] Krzyżowska M., Świątek W., Fijałkowska B., Niemiałowski M., Schollenberger A.: Rola kinazy MAP w odpowiedzi immunologicznej. *Postępy Biol. Kom.*, 2009; 36: 295-308
- [24] Laine L., Takeuchi K., Tarnawski A.: Gastric mucosal defense and cytoprotection: bench to bedside. *Gastroenterology*, 2008; 135: 41-60
- [25] Liu D.M., Sun B.W., Sun Z.W., Jin Q., Sun Y., Chen X.: Suppression of inflammatory cytokine production and oxidative stress by CO-releasing molecules-liberated CO in the small intestine of thermally-injured mice. *Acta Pharmacol. Sin.*, 2008; 29: 838-846
- [26] Medeiros C.A., Warren C.A., Freire R., Vieira C.A., Lima B.B., Vale M.L., Ribeiro R.A., Souza M.H., Brito G.A.: Role of the haem oxygenase/carbon monoxide pathway in *Clostridium difficile* toxin A-induced enteritis in mice. *J. Med. Microbiol.*, 2011; 60: 1146-1154
- [27] Motawi T.K., Abd Elgawad H.M., Shahin N.N.: Gastroprotective effect of leptin in indomethacin-induced gastric injury. *J. Biomed. Sci.*, 2008; 15: 405-412
- [28] Motterlini R.: Carbon monoxide-releasing molecules (CO-RMs): vasodilatory, anti-ischaemic and anti-inflammatory activities. *Biochem. Soc. Trans.*, 2007; 35: 1142-1146
- [29] Müller S., Hoege C., Pyrowolakis G., Jentsch S.: SUMO, ubiquitin’s mysterious cousin. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2001; 2: 202-210
- [30] Nakao A., Kaczorowski D.J., Sugimoto R., Billiri T.R., McCurry K.R.: Application of heme oxygenase-1, carbon monoxide and biliverdin for the prevention of intestinal ischemia/reperfusion injury. *J. Clin. Biochem. Nutr.*, 2008; 42: 78-88
- [31] Nakao A., Kimizuka K., Stolz D.B., Neto J.S., Kaizu T., Choi A.M., Uchiyama T., Zuckerbraun B.S., Nalesnik M.A., Otterbein L.E., Murase N.: Carbon monoxide inhalation protects rat intestinal grafts from ischemia/reperfusion injury. *Am. J. Pathol.*, 2003; 163: 1587-1598
- [32] Otterbein L.E., Bach F.H., Alam J., Soares M., Lu H.T., Wysk M., Davis R.J., Flavell R.A., Choi A.M.: Carbon monoxide has anti-inflammatory effects involving the mitogen-activated protein kinase pathway. *Nat. Med.*, 2000; 6: 422-428
- [33] Pouokam E., Steidle J., Diener M.: Regulation of colonic ion transport by gasotransmitters. *Biol. Pharm. Bull.*, 2011; 34: 789-793
- [34] Pourcet B., Staels B., Glineur C.: PPAR SUMOylation: some useful experimental tips. *Methods Mol. Biol.*, 2013; 952: 145-161
- [35] Ryter S.W., Alam J., Choi A.M.: Heme oxygenase-1/carbon monoxide: from basic science to therapeutic applications. *Physiol. Rev.*, 2006; 86: 583-650
- [36] Ryter S.W., Choi A.M.: Heme oxygenase-1/carbon monoxide from metabolism to molecular therapy. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 2009; 41: 251-260

- [37] Ryter S.W., Otterbein L.E.: Carbon monoxide in biology and medicine. *Bioessays*, 2004; 26: 270-280
- [38] Ryter S.W., Otterbein L.E., Morse D., Choi A.M.: Heme oxygenase/carbon monoxide signaling pathways: Regulation and functional significance. *Mol. Cell. Biochem.*, 2002; 234/235: 249-263
- [39] Schwartz D.C., Hochstrasser M.: A superfamily of protein tags: ubiquitin, SUMO and related modifiers. *Trends Biochem. Sci.*, 2003; 28: 321-328
- [40] Schwer C.I., Mutschler M., Stoll P., Goebel U., Humar M., Hoetzel A., Schmidt R.: Carbon monoxide releasing molecule-2 inhibits pancreatic stellate cell proliferation by activating p38 mitogen-activated protein kinase/heme oxygenase-1 signaling. *Mol. Pharmacol.*, 2010; 77: 660-669
- [41] Sibilia V., Rindi G., Pagani F., Rapetti D., Locatelli V., Torsello A., Campanini N., Deghenghi R., Netti C.: Ghrelin protects against ethanol-induced gastric ulcers in rats: studies on the mechanisms of action. *Endocrinology*, 2003; 144: 353-359
- [42] Singer I.I., Kawka D.W., Scott S., Weidner J.R., Mumford R.A., Riehl T.E., Stenson W.F.: Expression of inducible nitric oxide synthase and nitrotyrosine in colonic epithelium in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, 1996; 111: 871-885
- [43] Sjöstrand T.: The formation of carbon monoxide by the decomposition of haemoglobin *in vivo*. *Acta Physiol. Scand.*, 1952; 26: 338-344
- [44] Stocker R., Yamamoto Y., McDonagh A.F., Glazer A.N., Ames B.N.: Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. *Science*, 1987; 235: 1043-1046
- [45] Takasuka H., Hayashi S., Koyama M., Yasuda M., Aihara E., Amagase K., Takeuchi K.: Carbon monoxide involved in modulating HCO_3^- -secretion in rat duodenum. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2011; 337: 293-300
- [46] Thorup C., Jones C.L., Gross S.S., Moore L.C., Goligorsky M.S.: Carbon monoxide induces vasodilation and nitric oxide release but suppresses endothelial NOS. *Am. J. Physiol.*, 1999; 277: F882-F889
- [47] Vreman H.J., Wong R.J., Stevenson D.K.: Carbon monoxide in breath, blood, and other tissues. W: *Carbon Monoxide Toxicity*, red. Penney D.G., Boca Raton, FL: CRC, 2000: 19-60
- [48] Wang R., Wu L.: Interaction of selective amino acid residues of K_{Ca} channels with carbon monoxide. *Exp. Biol. Med.*, 2003; 228: 474-480
- [49] Wang W.P., Guo X., Koo M.W., Wong B.C., Lam S.K., Ye Y.N., Cho C.H.: Protective role of heme oxygenase-1 on trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis in rats. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 2001; 281: G586-G594
- [50] Wei Y., Chen P., de Bruyn M., Zhang W., Bremer E., Helfrich W.: Carbon monoxide-releasing molecule-2 (CORM-2) attenuates acute hepatic ischemia reperfusion injury in rats. *BMC Gastroenterol.*, 2010; 10: 42
- [51] Wu L., Cao K., Lu Y., Wang R.: Different mechanisms underlying the stimulation of $\text{K}(\text{Ca})$ channels by nitric oxide and carbon monoxide. *J. Clin. Invest.*, 2002; 110: 691-700
- [52] Wu L., Wang R.: Carbon monoxide: endogenous production, physiological functions, and pharmacological applications. *Pharmacol. Rev.*, 2005; 57: 585-630
- [53] Xue L., Farrugia G., Miller S.M., Ferris C.D., Snyder S.H., Szurszewski J.H.: Carbon monoxide and nitric oxide as coneurotransmitters in the enteric nervous system: evidence from genomic deletion of biosynthetic enzymes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2000; 97: 1851-1855

 Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.